

マイクロブタニル試験法

1. 分析対象化合物

マイクロブタニル

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

凝固液 塩化アンモニウム2 g及びリン酸4 mLに水を加えて400 mLとする。

4. 標準品

マイクロブタニル 本品はマイクロブタニル99%以上を含む。

融点 本品の融点は68～69℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

(1) 穀類、果実、野菜及び抹茶の場合

穀類の場合は、検体を420 μmの標準網ふるいを通して粉砕した後、その20.0 gを量り採り、水40 mLを加え、2時間放置する。

果実及び野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体5.00 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約50 mLに濃縮する。

これをあらかじめ5%塩化ナトリウム溶液200 mL及び*n*-ヘキサン100 mLを入れた500 mLの分液漏斗に移す。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物

を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で*n*-ヘキサンを除去する。

この残留物にアセトン20 mLを加えて溶かし、凝固液50 mL及びケイソウ土2 gを加え、時々振り混ぜながら5分間放置し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を200 mLの分液漏斗に移す。アセトン及び凝固液の混液（2：5）50 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これに*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を200 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素を通じて乾固する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：17）10 mLを加えて溶かす。

(2) 抹茶以外の茶の場合

検体6.00 gを100℃の水360 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液300 mLを500 mLの分液漏斗に移す。これにアセトン20 mL、塩化ナトリウム15 g及び*n*-ヘキサン100 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層にアセトン20 mL及び*n*-ヘキサン70 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素を通じて乾固する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：17）10 mLを加えて溶かす。

b 精製法

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用シリカゲル（粒径150～425 μm）5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したものを、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ、カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：17）50 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液（3：7）100 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素を通じて乾固する。この残留物に酢酸エチルを加えて溶かし、正確に20 mLとして、これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径0.25 mm, 長さ30 mのケイ酸ガラス製の細管に, ガスクロマトグラフィー用5%フェニルーメチルシリコンを0.25 μmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 100℃で1分間保持し, その後毎分30℃で昇温し, 280℃に到達後5分間保持する。

試験溶液注入口温度 250℃

注入方式 スプリットレス

検出器 280℃で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。マイクロブタニルが約7分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき, ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

c 確認試験

a 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また, 必要に応じ, ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

7. 定量限界

0.02 mg/kg (茶にあつては0.08 mg/kg)

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A